

113

Begeleidingsformulier aanvraag dierproef DEC- UM

Versie 2006

Herziene versie

DECNR: 2011-022

Ontvangen: 03-03-2011

DEC datum goedkeuring#	Type aanvraag 2
14-03-2011	

VROM/GGONR³

LNV/CBDNR⁴

Hoofproject	CARIM	NUTRIM	Hersenen en gedrag	GROW	biomaterialen	Ander UM	Geen UM TU/e
-------------	-------	--------	--------------------	------	---------------	----------	--------------

Deelproject	1, 2, 3.	1, 2, 3, 4.	1, 2, 3.	1, 2, 3.			
-------------	----------	-------------	----------	----------	--	--	--

Financieel beheerder	
----------------------	--

Budgetnummer 30983285 B

Titel van het onderzoek:

Vergelijkende studie PCL grafts in ratten

startdatum 01-03-2011

einddatum 9 1-03-2013

Duur van de proef¹⁰: 1 jaar

	Naam	Tel (+ Tel privé enkel VO, VVO en VM)	E-mailadres	Bevoegdheid ⁵	Cap. groep /afdeling
1. Verantwoordelijk onderzoeker (VO)				Art.9	
2. Vervanger VO (VVO)				Art 9	
3. Verantwoordelijk medewerker (VM) GGO ⁷					
4. overige uitvoerenden				Art. 12	

Diergroep	1	2	3.	4.	5.	6.	7.
ctrl/exp/sham	Exp	Exp	Exp	Exp	Exp	Exp	Exp
Diersoort	Rat	Rat	Rat	Rat	Rat	Rat	Rat
Stam	Sprague-Dawley	Sprague-Dawley	Sprague-Dawley	Sprague-Dawley	Sprague-Dawley	Sprague-Dawley	Sprague-Dawley
Construct / mutatie ?	nee	nee	nee	nee	nee	nee	nee
Herkomst (leverancier) *	Charles River	Charles River	Charles River	Charles River	Charles River	Charles River	Charles River
Aantal	24	20	40	20	10	30	20
Geslacht	m/v	m/v	m/v	m/v	m/v	m/v	m/v
Dieren immuuncompetent ?	Ja	ja/nee ⁸	ja/nee ⁸	ja/nee ⁸	ja/nee ⁸	ja/nee ⁸	ja/nee ⁸
Leeftijd/gewicht	350g	350g	350g	350g	350g	350g	350g
Doel van de proef *	05	05	05	05	05	05	05
Belang van de proef *	01	01	01	01	01	01	01
Toxicologisch onderzoek *	01	01	01	01	01	01	01
Bijzondere technieken *	01	01	01	01	01	01	01
Anesthesie *	04	04	04	04	04	04	04
Pijnbestrijding *	04	04	04	04	04	04	04
Mate ongerief *	04	04	04	04	04	04	04
Toestand dier einde exp*	01	01	01	01	01	01	01

* VHI-coderingen zie bijlage

1. Doel van de proef.

Kleine-diameter (<5mm) vasculaire grafts worden toegepast bij het bypassen van verstopte arteriën in de coronaire of perifere circulatie. Daarnaast worden ze toegepast als arterio-veneuze (AV) shunt voor hemodialyse patiënten. Voor kleine-diameter vasculaire grafts worden autologe bloedvaten of synthetische grafts gebruikt, maar deze functioneren verre van optimaal door thrombogeniteit, afwijkende compliantie en sterke intima hyperplasie. Er is echter een groeiend aantal patiënten dat niet over geschikte autologe bloedvaten beschikt vanwege bv. het eerder verwijderen van bloedvaten of het hebben van bloedvaten met een ongeschikte diameter of lengte. Omdat de synthetische grafts niet goed functioneren wordt er gezocht naar alternatieven.

Het implanteren van 'kale' (celvrije) grafts die in vivo cellen aantrekken is een alternatief waarbij sterkere grafts van biomaterialen worden gebruikt, en waarbij de uitgebreide kweekfase van bovengenoemde techniek over wordt geslagen en er geen extra ingreep in het dier/mens hoeft te worden gedaan om cellen te verkrijgen. De belangrijkste cellen die de graft moeten bevolken zijn het endotheel, wat de binnenste bekleding van het bloedvat vormt en de gladde spiercellen die in de wand zitten en de compliantie en contractiliteit van het bloedvat bepalen.

Uitgaande van het basismateriaal PCL dat door middel van electrospinning tot een graft wordt gemaakt, zijn er diverse mogelijkheden om de toepassing te veranderen en hopelijk te verbeteren. De 2 belangrijkste verbeteringen zijn: a) de koppeling van een UPy eindgroep aan het PCL en b) de koppeling van kleine peptiden die endotheel of juist gladde spiercellen kunnen aantrekken. De UPy eindgroep maakt het mogelijk dat het polymeer zich zelf kan vormen en herstellen en zich dus mogelijk kan aanpassen aan de vereiste sterkte, elasticiteit en vorm. De peptiden zijn bedoeld om de aantrekken van specifieke vaatwandcellen te sturen.

Een pilot experiment waarin 10 PCL grafts (2 verschillende versies) zijn geïmplanteed is succesvol verlopen. Na een leercurve, is het succespercentage van de graft implantatie nu voldoende groot: 4 uit de laatste 5 dieren hebben de 14 dagen follow up goed doorstaan en hadden na afloop een doorgankelijke graft. Bij 1 dier is de procedure mislukt door een chirurgisch-technische fout. Voor dit succes was halverwege de studie een aanpassing van de diameter en de wanddikte van de graft nodig. Bovendien hebben we voor de zekerheid de dieren behandeld met een krachtige plaatjes aggregatie remmer. Deze laatste hebben we in dier 4 achterwege gelaten en dit heeft geen negatieve invloed gehad. We kennen nu in ieder geval enkele voorwaarden voor succes.

Het voorliggende protocol bouwt verder op deze bevindingen. We willen de volgende vragen beantwoorden:

1. Worden de resultaten beïnvloed door de flow, m.a.w. kan de graft nog steeds succesvol worden ingezet in een lage flow omgeving?
2. Hoe verloopt de afbraak van het PCL over de tijd?
3. Is met de grotere diameter graft de plaatjesaggregatie remmer nog noodzakelijk?
4. Is het mogelijk om cel recrutering in de graft te sturen door de lumenale of juist de adventitiële laag minder poreus te maken?
5. Verbeterd het van te voren zaaien van endotheel de functie van de graft?
6. Presteert een chemisch gemodificeerd PCL (UPy) net zo goed als of beter dan PCL?
7. Draagt functionalisering van het graft materiaal door middel van inbouw van peptiden die endotheel of gladde spiercellen aantrekken, bij aan de optimale ingroei van vaatwand cellen?

Het uiteindelijke doel is het creëren van een 'intelligente' bioafbreekbare graft, die in-vivo de gewenste cellen aantrekt en laat remodelen tot een sterk, non-trombogene vat.

2. Maatschappelijke relevantie en/of wetenschappelijk belang



Er is een grote behoefte aan kleine-diameter (<5mm) vasculaire grafts. Meer dan 1 miljoen arteriële bypass procedures worden jaarlijks uitgevoerd in de US, waarbij of een autoloog bloedvat of een synthetische graft wordt gebruikt voor het bypassen van arteriën in the coronaire of perifere circulatie. Kleine-diameter bloedvaten worden ook gebruikt als arterio-veneuze (AV) shunts voor hemodialyse patiënten. Het aantal dialyse patiënten met ernstig nierfalen in de VS bedraagt ongeveer 350.000 en de behoefte aan vasculaire grafts die gebruikt kunnen worden als AV shunt neemt toe. Voor beide toepassingen geldt dat gebruik van lichaamseigen bloedvaten te prefereren is boven het gebruik van synthetische bloedvaten. Synthetische grafts functioneren verre van optimaal door thrombogeniteit, afwijkende compliantie en sterke intima hyperplasie. Er is echter een groeiend aantal patiënten dat niet over geschikte autologe bloedvaten beschikt vanwege bv. het eerder verwijderen van bloedvaten of bloedvaten met een ongeschikte diameter of lengte. Omdat de synthetische grafts niet goed functioneren wordt er gezocht naar alternatieven. PCL grafts die in het lichaam cellen aantrekken zullen waarschijnlijk minder trombogen en stenoserend zijn dan de bekende synthetische grafts. Deze grafts kunnen in principe toegepast worden als AV-shunt of bypass graft. Er zijn wereldwijd 2 kleine klinische trials gestart waarin getissue-engineerde grafts geproduceerd worden volgens een licht afwijkende techniek, die als belangrijkste nadeel heeft dat de vaten 20 weken buiten het lichaam worden gekweekt met eerder geoogste autologe cellen. Deze fase wordt in ons model overgeslagen.

3. Alternatieven

De vasculaire grafts worden in-vitro getest op mechanische en biochemische eigenschappen. Het is echter de vraag hoe een cel-vrije graft in de natuurlijke dynamische omgeving van bloed en wisselende mechanische belasting en specifieke biochemische samenstelling cellen gaat aantrekken en ook kan vasthouden. Van groot belang voor het uiteindelijke functioneren is de remodellering die plaatsvindt in vivo. Hierbij worden cellen ingevangen en geherprogrammeerd om te voldoen aan de eisen die gesteld worden door de omgeving, zoals pulsatiele druk en shear verandering en verschillen in flow van een factor 6 onder fysiologische omstandigheden. Dit kunnen we alleen onderzoeken in een *in-vivo* omgeving. Gezien de afmetingen van de graft (ID 2 mm) is het het meest aangewezen deze graft te testen in een klein proefdier.

4. Ethische afweging

In dit experiment worden dieren onder narcose gebracht en worden vasculaire grafts geplaatst als interpositie graft van de infrarenale aorta. Het ongerief van de dieren is beperkt tot narcose en een chirurgische wond in de buik. Het potentiële resultaat van deze studie is een 'proof of principle' van de bruikbaarheid van slimme PCL grafts die in-vivo cellen aantrekken. Het klinisch belang voor een potentieel grote groep patiënten rechtvaardigt ons inziens deze proeven met een matig/ernstig ongerief voor dieren.

Wetenschap

5. Wetenschappelijke onderbouwing

Het onderzoek binnen cardiovasculaire tissue engineering richt zich op het kweken van autologe hartkleppen en bloedvaten. Recente *in-vivo* testen op kleine-diameter TEVG toonden dat celbezaaide grafts in sommige gevallen ruptureren of stenosereren. Daarom wordt nu een ander soort graft (PCL), zonder cellen getest om te onderzoeken of deze beter aansluit bij de *in-vivo* omstandigheden.

In plaats van het tamelijk omslachtige proces van ex vivo tissue engineering, wordt nu de

aandacht gericht op het gebruik van kant en klare biomaterialen die na implantatie in de mens de juiste vaatwand cellen aantrekken. De pilot studie 2009-009 heeft laten zien dat onze keuze voor het basis materiaal polycapronlacton (PCL) goed is.

De PCL graft is bio-afbreekbaar en heeft een poreuze structuur, waardoor cellen gemakkelijk adhereren en in de graft kunnen groeien. Uit de literatuur is bekend dat PCL in het lichaam binnen 6 maanden wordt afgebroken en dat de afbraakproducten niet schadelijk zijn voor omliggend weefsel. Recente publicaties in de literatuur wijzen erop, dat kale grafts goed in staat zijn cellen in te vangen en tot 12 maanden open blijven *in vivo* (Yokota 2008)⁴ en onze pilot bevestigt dit beeld. Echter, deze proeven hebben altijd plaatsgevonden in een high flow (aorta) omgeving met ongemodificeerde PCL.

Het is de vraag of deze resultaten representatief zijn voor een low flow omgeving. Uit de klinische praktijk blijkt dat hier het grootste probleem zich voordoet, zoals bijvoorbeeld in de perifere “onder de knie” grafts. De aorta interpositie graft die in het pilot onderzoek is gebruikt zal in een aparte substudie worden vervangen door een bypass graft, waarbij de aorta gewoon blijft functioneren. Door gelijktijdig een vernauwing in de aorta aan te brengen kan de flow in de bypass worden gereguleerd.

Het is bovendien de vraag of de PCLs zoals gebruikt wel de meest optimale bouwsteen zijn.

De ontwikkeling van zelf-assemblerende en -organiserende polymeren heeft in Eindhoven geleid tot de synthese van PCL UPy's, waarin de UPy eindgroep door middel van waterstofbinding de basis vormt voor polymeer vorming. Het karakter van de waterstofbinding is zodanig dat die vanzelf tot stand komt in een waterige omgeving en ook kan veranderen zonder tussenkomst van enzymen of polymerisatie bevorderende externe prikkels (agentia, UV straling e.d.). Deze materialen blijken biocompatibel en blijken ook sterk genoeg te zijn om PCL te kunnen vervangen. Bovendien kunnen ze, net als PCL, worden gesponnen tot draden die weer in een buisvorm (graft) worden neergelegd.

De andere ontwikkeling die wordt ingezet is het aanbrengen van kleine peptiden in het PCL die de recrutering van endotheel cellen en gladde spiercellen bevordert. Het is gebleken dat endotheel cellen en gladde spier cellen –de belangrijkste cellen in de vaatwand- aangetrokken worden door verschillende eiwitten. Anderzijds lijkt coating met HDL (het “goede” cholesterol) ook de endotheel recrutering te bevorderen.

Het verwachte resultaat van het huidige experiment omvat een ‘proof of principle’ van de bruikbaarheid van de gemodificeerde PCL graft als arteriële bypass graft. Het uiteindelijke doel is het creëren van een ‘intelligente’ bioafbreekbare graft, die *in-vivo* de gewenste cellen aantrekt en laat remodelen tot een sterk, non-trombogene vat.

6. Wetenschappelijke beoordeling

De beschreven experimenten zijn onderdeel van een onderzoek waarvoor een () subsidie is toegekend. Dit is een groot samenwerkingsverband met de industrie, overheid en diverse academische instituten. De subsidie is toegekend na beoordeling van de wetenschappelijke kwaliteit door een erkend internationaal panel. Het voorliggende onderzoek is wetenschappelijk beoordeeld en goedgekeurd door de

7. Proefdier keuze

7a. Soort, stam / herkomst / eindbestemming

Volwassen Sprague-Dawley ratten worden gebruikt voor dit onderzoek. Wij hebben voor deze soort en stam gekozen gezien onze eigen ervaring en met het oog op reproduceerbaarheid. De dieren zijn afkomstig van Charles River. Na afloop van het experiment wordt het dier opgeofferd middels verbloeding onder anesthesie.

7b. Sexe

Er is geen voorkeur voor een bepaalde sexe, beide geslachten dienen wel in gelijke mate vertegenwoordigd te zijn in de onderzoeksgroepen.

7.c. Aantallen .

Te onderzoeken groepen:

		2d	14d	6 mnd	1 jr
1	-Plavix controle (HF)		10	7	7
2	Lage flow (LF)		10		
	Lage flow +Plavix		10		
3	HF+endotheel	10	10		
	LF+endotheel	10	10		
4	Compacte Luminale zijde		10		
	Compacte adventitiële zijde		10		
5	PCL-UPy		10		
6	UPy + endotheel recruterings	10	10		
	UPy + gladde spiercel recruterings		10		
7	PCL+HDL	10	10		

Het eindpunt voor de 14 daagse experimenten is neointima vorming. Dit is een kwantitatieve maat die normaal is verdeeld. Voor de 2 daagse experimenten is aanwezigheid van endotheel het eindpunt. Dit is ook een kwantitatieve maat omdat de aanwezigheid wordt uitgedrukt als percentage bedekking van het totale te bekleden oppervlakte (0-100%) met endotheelcellen. Voor de 6 maanden en de 1 jaar proef is het molecuul gewicht van het nog aanwezige PCL het eindpunt. In deze experimenten is 14 dagen de gebruikelijke follow up omdat het eerste tijdstip is waarop je kwantitatieve uitspraken over neointima vorming kunt doen. In de experimenten waarin endotheel adhesie wordt bevorderd is het noodzakelijk om bij 2 dagen te kijken hoe groot de bedekking met endotheel is. Uiteindelijk wordt in dit model de gehele graft met endotheel bedekt en de late tijdstippen zijn dus niet voldoende discriminerend. De 6 maanden en 1 jaar experimenten hebben als doel om de afbraak van PCL te onderzoeken. De afbraak van PCL is heel langzaam, periodes tot 2 jaar zijn beschreven. Dit is echter nooit onderzocht in onze specifieke situatie namelijk die van gebruik van gesponnen PCL draden in een vasculaire graft.

Aantallen (volgens Sachs):

14 daagse experimenten: spreiding van neointima=30%, te meten verschil in neointima vorming 40% $\Rightarrow$ n=9. We verwachten een uitval van 10%, dus n=10.

2 daagse experimenten: spreiding van endotheel bedekking=45%, te meten verschil is 60% $\Rightarrow$ n=9. We verwachten een uitval van 10%, dus n=10

6 maand en 1 jaar: Het molecuul gewicht van het aanwezige PCL is per definitie geen normaal verdeelde variabele. Informatie over spreiding is niet voorhanden. N=6 is het minimale aantal waarop naar alle waarschijnlijkheid goede uitspraken kunnen worden gedaan. Met 1 uitval per groep gaan we uit van 7 dieren per groep.

Dierproef

8. Experiment

Nadat het dier onder anesthesie (SOP 1) is gebracht, wordt middels een midline incisie toegang tot de abdominale aorta verschaft. Onder de aftakking van de nierarteriën (infreanaal) wordt vervolgens de PCL of vergelijkbare graft van 1 cm lengte ingehecht middels end-to-end anastomoses als interpositiegraft, met doorlopende hechtingen van zeer fijn hecht draad (SOP II). In de groepen waarin lage flow (LF) wordt onderzocht, wordt de graft als bypass ingehecht, waarbij de aorta al of niet vernauwd door banding (SOP IIa). In een van de groepen die een LF graft krijgen (de helft van groep 2) wordt Plavix (5 mg p.o.) gedurende de gehele follow up (14 dagen) gegeven.

Na controle van hemostase en doorgankelijkheid van de graft wordt de buik weer gesloten. De dieren worden na de aangegeven follow-up wederom onder anesthesie gebracht, waarna de graft inclusief een proximale en distale deel van de aorta wordt uitgenomen voor histologische en morfologische analyse. Hierna wordt het dier geëuthanaseerd middels verbloeding (SOP III).

9. Experimentele condities

9a. Anesthesie

Voor de implantatie van de graft worden de dieren gesedeeerd met Temgesic (0,1 mg/kg subcutaan) en onder gasanesthesie gebracht mbv 3-4% isofluraan (inductie) en vervolgens een onderhoudsdosis van 1-2% isofluraan.

9b. Pijnbestrijding

Voor post-operatieve pijnbestrijding wordt buprenorfine (Temgesic; 0,1 mg/kg subcutaan; veronderstelde werkdur 12 uur) direct na de operatie toegediend.

9c. Euthanasie en Humane eindpunten

Na afloop van het experiment wordt het dier opgeofferd door middel van verbloeden onder narcose.

De dieren zullen voortijdig ge-euthanaseerd worden met uitzondering van de graft bij:

- Occlusie van de graft. Dit zal zichtbaar zijn door een verslechtering van de functie van de achterpoten, dus slepen of volledige uitval van de poten.
- Gegeneraliseerde afname in zelfverzorging en abnormale verschijning over een lange periode. I.h.b. ruwe haarvacht, uitgebreide alopecia, verlengde diarree, gezwollen extremiteiten, paralyse of andere neurologische verschijnselen (convulsies, abnormale hoofddracht, circulerend gedrag)
- Onbehandelbare infectie van de buikwond.
- Er bestaat een kans op lekkage van de graft hoewel we dat in de pilot niet zijn tegengekomen. In dat geval zal er of een acute shock ontstaan waarna het dier binnen de minuut zal overlijden, of het is een kleine lekkage met peritoneale prikkeling als gevolg van bloed. In het laatste geval zal het dier aan de humane eindpunten voldoen en vroegtijdig worden ge-euthanaseerd.
- Gewichtsverlies. Er wordt geen gewichtsverlies verwacht. Bij gewichtsverlies van meer dan 10% zal het dier worden ge-euthanaseerd.

Zorg

10a. Ongerief

Om een beter inzicht te geven in het te verwachten ongerief tijdens het experimenten is er een onderverdeling gemaakt aan de hand van de handelingen.

- | | |
|---|--------------|
| • Pre-operatief, voorbereiding: toediening pijnbestrijding subcutaan | Ongerief: 02 |
| • Per-operatief, geen ongerief | Ongerief: 01 |
| • Post-operatief, (met pijnmedicatie) | Ongerief: 04 |
| • Terminaal experiment ten behoeve van isolatie weefsels op dag 14, 6 maanden of 1 jaar | |
| Handelingen geschieden onder algehele narcose, euthanasie dier | Ongerief: 02 |

10b. Welzijnsevaluatie

Er bestaat het risico op occlusie van de graft met als gevolg ischemie van de achterpoten. Hier zal dagelijks op gelet worden door de verzorgers.

11. Verzorging en huisvesting

De dieren worden verzorgd door CPV medewerkers en gehuisvest in de ruimtes van het CPV (lokatie TU/e). Tijdens de experimenten en bij het wakker worden van het dier is steeds minimaal één van de vermelde onderzoekers bij de dieren aanwezig, om toe te zien op de toestand van het dier. In geval van calamiteiten kan de artikel 12 worden verwittigd. Indien deze niet voorhanden is zullen de andere betrokken onderzoekers worden benaderd. Voor en na de ingreep kunnen de dieren sociaal gehuisvest worden. Indien dit postoperatief problemen veroorzaakt tav de wond zal postoperatief worden overgestapt op individuele huisvesting. Standaardvoeding en drinkwater wordt ad libitum aangeboden.

12. Deskundigheid

Iedereen die betrokken is bij deze studie is bevoegd en bekwaam om zijn deel te kunnen uitoefenen.

De VO is art 9 functionaris en heeft 20 jaar ervaring in het werken met diverse vaat modellen in muizen, ratten, konijnen en varkens. De VVO heeft 2 jaar ervaring met proefdieronderzoek en heeft bij enkele 10-tallen dieren een arterioveneuze shunt aangelegd wat qua techniek en moeilijkheidsgraad vergelijkbaar is met het inhechten van PCL grafts. De art 12 functionaris en heeft de pilot experimenten succesvol afgerond.

13. Standard Operation Procedures (SOP)

SOP I Anesthesie van de rat

Sedatie en narcose dmv 0,1 mg/kg Temgesic s.c. (15-30 minuten voor de ingreep) en 3-4 % om het dier onder narcose te brengen en 2-2,5% isofluraan tijdens de ingrepen. Ingrepen worden gestart na negatieve reactie op pijnprikkel zoals voetzool-en ooglidreflex, een rustige ademhaling en hartslag.

SOP II Plaatsen interpositiegraft infrarenale aorta

- Fixeer de rat in supine positie met tape op de verwarmde operatieplaat (instelling 42.0°C)
- Behandel de ogen met oogzalf (chloramphenicol)
- Scheer de buik
- Operatie gebied joderen en desinfecteren en omgeving afdekken met steriele doeken
- Mediane incisie verrichten
- Middels stompe en evt. scherpe dissectie aorta over enkele cm's vrijprepareren distaal van de nierarteriën. Klemmen plaatsen net onder de nierarteriën en op beide iliacaal arteriën.

- Onder de aftakking van de nierarteriën (infrarenaal) 1 cm aorta uitnemen en vervolgens de PCL graft van 1 cm lengte inhechten middels end-to-end anastomoses als interpositiegraft, met doorlopende hechtingen van 10-0 nylon.
- In de lage flow groepen wordt de graft als bypass ingehecht en wordt de aorta middels banding vernauwd.
- Voor complementering van de anastomoses graft flushen met heparinewater.
- Verwijder de proximale klem en controleer hemostase, evt lekkages opheffen
- Bij adequate hemostase verwijderen distale klem en vrijgeven circulatie
- Sluiten buik met resorbeerbare synthetisch hechtmateriaal 4-0 en sluiten huid met krammen

SOP IIa Plaatsen bygraft en banding van infrarenale aorta

In de lage flow groepen wordt de graft als bypass ingehecht en wordt de aorta middels banding vernauwd.

Deze SOP is identiek aan SOP II met als enige verschil dat niet een interpositie graft in de aorta wordt ingehecht maar een bypass graft, al of niet in combinatie met banding van de aorta.

- aanleggen bypass graft van PCL materiaal op de infrarenale aorta. Dit zijn end-to-side anastomoses.
- Aanleggen van band om infrarenale aorta, tussen de anastomoses van de bypass graft. Voor een lage flow conditie wordt een sham band om de aorta aangebracht, dwz een ligatuur van zijde die niet wordt aangetrokken. Voor een hoge flow conditie wordt de sham band aangetrokken over 0.7 mm dikke naald die na knopen van de ligatuur wordt teruggetrokken (zie SOP Far-09-R).

SOP III Uitname graft en euthanasie

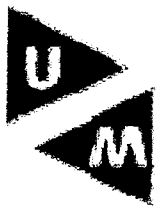
Anesthesie middels SOP I.

- Fixeer de rat in supine positie met tape op de verwarmde operatieplaat (instelling 42.0°C)
- Openen buik via oude incisie.
- Vrijprepareren graft en proximaal en distaal deel aorta.
- Klemmen proximaal en distaal van de graft plaatsen, >0,5 cm van de anastomose.
- Uitnemen graft inclusief anastomoses, fixeren in gewenste medium.
- Klemmen verwijderen en rat laten verbloeden tot de dood volgt.

Relevante literatuur

1. Mol A, van Lieshout MI, Dam-de Veen CG, et al. Fibrin as a cell carrier in cardiovascular tissue engineering applications. *Biomaterials* 2005;**26**(16):3113-21.
2. Stekelenburg M, Rutten MC, Snoeckx LH, Baaijens FP. Dynamic Straining Combined with Fibrin Gel Cell Seeding Improves Strength of Tissue-Engineered Small-Diameter Vascular Grafts. *Tissue Eng Part A* 2008.
3. Hoerstrup SP, Cummings Mrcs I, Lachat M, et al. Functional growth in tissue-engineered living, vascular grafts: follow-up at 100 weeks in a large animal model. *Circulation* 2006;**114**(1 Suppl):I159-66.
4. Yokota T, Ichikawa H, Matsumiya G, et al. In situ tissue regeneration using a novel tissue-engineered, small-caliber vascular graft without cell seeding. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2008;**136**(4):900-907.
5. Knetsch, ML, YB Aldenhoff, et al. The effect of high-density-lipoprotein on thrombus formation and endothelial cell attachment to biomaterial surfaces.

Biomaterials 2006; 27(14): 2813-9.



University Maastricht

Faculty of Health, Medicine

and Life Sciences

Dierexperimenten Commissie

DEC

Aan:

p/a Secretariaat DEC-UM
Postbus 616
NL-6200 MD Maastricht
Telefoon:

Uw referentie:

Onze referentie : MQ- 104-11

Maastricht, 01-03-2011

Geachte Onderzoeker,

Uw projectaanvraag: "*Vergelijkende studie PCL grafts in ratten*", is op de DEC vergadering van 25 februari 2011 besproken.

De DEC heeft een aantal vragen en opmerkingen:

- De DEC verzoekt het privételefoonnummer van de vervangend verantwoordelijke onderzoeker te vermelden op het voorblad.
- De DEC merkt op, dat gezien het aantal dieren, dit geen "pilot" (zie type aanvraag) is en verzoekt dit woord te verwijderen van het voorblad.

Gelieve eventuele vragen te beantwoorden in **een brief en indien noodzakelijk Uw project aan te passen en duidelijk de aanpassingen grijs te markeren.**

Uw project staat bij de DEC geregistreerd onder nummer **2011-022**, gelieve dit nummer in verdere correspondentie te vermelden.

Hoogachtend,

Voorzitter DEC-UM

Aan:

Ons kenmerk
RH/MQ- 139-11*Doorkiesnummer*
043-*Maastricht*
14-03-2011*Project: Vergelijkende studie PCL grafts in ratten.*DEC-UM
Voorzitter DEC-UM*Verantwoordelijk onderzoeker (VO): M. Post*

p/a secretariaat DEC-UM

Hierbij delen wij U mede dat voornoemd project aan de ethische toetsingscriteria voor proefdiergebruik voldoet.

Secretariaat DEC-UM

De DEC maakt geen bezwaar tegen uitvoering van dit project zoals aangevraagd en geeft een **positief advies**.

Bezoekadres

Projectnummer: 2011-022
Diersoort: rat
Aantal dieren: 164
Einddatum: 14-03-2015

Postadres
Postbus 616
6200 MD Maastricht

Uw project staat bij de DEC en CPV geregistreerd onder bovenstaand nummer. Gelieve dieren, die voor dit project bestemd zijn, ook onder dit nummer aan te vragen.

Voorzitter DEC-UM

Vice-Voorzitter DEC-UM